

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : 2 653 998  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : 90 13786

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : A 61 K 31/48; C 07 D 519/04

⑫ DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 07.11.90.

③0 Priorité : 07.11.89 HU 580489.

⑦1 Demandeur(s) : RICHTER GEDEON VEGYÉSZETI  
GYÁE R.T. — HU.

④3 Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 10.05.91 Bulletin 91/19.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche : *Le rapport de recherche n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑦2 Inventeur(s) : Gazdag Mária, Szepesi Gábor, Takácsi  
Nagy Géza Nagy, Papp née Sziklai Zsófia, Nagy  
László, Zsoldos née Bobják Monika et Kiss Éva  
Eszter.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Cabinet Ores.

⑤4 Solution injectable et procédé pour la préparer.

⑤7 L'invention est relative à de nouvelles compositions  
pharmaceutiques aqueuses stables à usage parentéral,  
principalement injectables, contenant un alcaloïde de type  
bis-indole. Les compositions comprennent le complexe de  
zinc d'un alcaloïde de type bis-indole, de préférence de la  
vincristine, de la vinblastine ou de la 5'-nor-  
anhydrovinblastine, avec un gluconate de métal bivalent et  
un agent conservateur dissous dans un alcool mono- ou  
polyhydrique.

L'invention concerne aussi un procédé pour la prépara-  
tion de ces compositions.

La composition selon l'invention peut être utilisée pour  
l'administration parentérale d'alcaloïdes de type bis-indole  
dans la chimiothérapie du cancer.

FR 2 653 998 - A1



La présente invention est relative à de nouvelles compositions pharmaceutiques aqueuses stables à usage parentéral, de préférence à des solutions injectables contenant le complexe de zinc d'alcaloïdes de type bis-indole, de préférence la vincristine (dénommée par la suite : VCR), la vinblastine (par la suite: VBL) et la 5'-nor-anhydrovinblastine (par la suite: 5'-nor-VBL). L'invention concerne de plus un procédé pour préparer ces compositions au moyen d'agents conservateurs.

On sait que des composés de type bis-indole (alcaloïdes) et en particulier la VCR et la VBL d'origine naturelle, ainsi que la 5'-nor-VBL récemment préparée de façon synthétique, jouent un rôle remarquable dans le traitement anti-tumoral. Ces composés ont été commercialisés ou décrits, respectivement dans les diverses pharmacopées en tant que sels (principalement en tant que sulfates ou que difumarates, respectivement).

On sait également que la forme de dosage injectable des agents actifs ci-dessus a un rôle décisif dans la bataille contre le cancer. La recherche et la mise au point de formes pharmaceutiques injectables variées ont donc pris de l'importance dans les années 1980. Dans ce domaine, il faut mentionner la formulation injectable décrite dans le brevet US No. 4.619.935, dans lequel les auteurs abandonnent les techniques de lyophilisation utilisées antérieurement et formulent la composition à aspirer dans la seringue en solution aqueuse sous une forme en ampoule unique.

Le principe de la solution décrite dans le brevet mentionné plus haut, comprend la dissolution dans l'eau de la VCR ou dans des publications ultérieures, (voir par exemple le brevet hongrois No. 191.538), de la VBL ou de la vindesine sous forme de leurs sulfates, en présence d'un système tampon à l'acétate et ensuite l'introduction dans la solution d'un agent stabilisant microbiologique requis pour obtenir une composition oncologique stable. Le 4-hydroxybenzoate de méthyle ou le 4-hydroxybenzoate de propyle bien connus antérieurement sont utilisés en tant que

stabilisants. Un élément important de cette solution réside en ce que la solution aqueuse contient du mannitol en une concentration relativement élevée (100 mg/ml).

Cependant, on ne trouve que peu de données indiquant  
5 une réelle stabilité parmi les données impliquant une reconnaissance d'un caractère indubitablement nouveau. Dans le brevet hongrois cité plus haut, il est seulement indiqué que 94 à 99% de la concentration d'origine de la solution injectable de sulfate de VCR sont conservés après 9 mois de stockage à 5°C, tandis  
10 qu'une stabilité de 98,7 à 100% après 12 mois est rapportée par les auteurs dans le cas de la VBL.

Bien qu'une stabilité de 94% après 9 mois ne puisse pas être considérée comme suffisante, la solution ci-dessus a aussi un autre inconvénient en ce que les solutions injectables contiennent  
15 un nombre relativement élevé de composants. Il est bien connu qu'on cherche toujours à n'introduire dans la composition injectable que les additifs les plus nécessaires et seulement en des quantités les plus faibles possibles en plus du composant actif.

En raison des inconvénients ci-dessus, on recherche  
20 d'autres solutions plus avantageuses. Une telle solution est indiquée par exemple, dans le brevet hongrois No. 195.513. Les auteurs de ce brevet, abondamment soutenus par des données de stabilité, ont trouvé qu'on peut parfaitement stabiliser des solutions aqueuses de composés de type bis-indole en formant des  
25 complexes des bis-indoles avec certains métaux bivalents, à savoir le zinc ( $Zn^{+2}$ ), le calcium ( $Ca^{2+}$ ) ou le magnésium ( $Mg^{2+}$ ), respectivement dans la solution aqueuse. L'existence des complexes est démontrée par des examens polarographiques. Le produit obtenu à la suite de ce travail vraiment persuasif se révèle  
30 suffisamment stable, mais présente un inconvénient en ce qu'il consiste en un grand nombre de composants: par exemple le produit de l'exemple 1 contient 8 composants en plus du composant actif. A savoir, un système tampon consistant en acide acétique et acétate de sodium et comme dans la solution de l'art antérieur, une  
35 concentration relativement élevée en mannitol sont aussi

nécessaires en plus des agents conservateurs.

La produit publié dans le brevet européen No. 0.243.278 est également désavantageux du même point de vue. Selon ce dernier brevet, on utilise 0,1 à 2,2% en poids de glycine, un système tampon contenant des ions phosphate et des agents conservateurs (dans certains cas même 6 composants) pour préparer des solutions injectables stables des bis-indoles. Non seulement le nombre d'additifs utilisés est grand, mais aussi les caractéristiques de stabilité du produit sont insuffisantes. Selon ce brevet, la solution reste stable à un pH de 4,15 pendant 2 ans; cependant, selon des mesures répétées effectuées par la Demanderesse, le produit contient le composant actif non décomposé en une quantité de 93 à 93,5% seulement après 6 mois de stockage.

Ainsi, l'objet de la présente invention est de fournir une composition pharmaceutique et un procédé pour la préparer, laquelle composition est plus stable que les formulations connues jusqu'à maintenant et contient simultanément un plus petit nombre d'additifs et à une concentration minimum en fonction des exigences actuelles.

La présente invention repose sur la constatation selon laquelle, parmi les complexes métalliques des bis-indoles, le complexe de zinc présente les propriétés de stabilité les plus avantageuses et le travail de mise au point de la Demanderesse part de ce fait.

On a trouvé de façon surprenante, que la teneur en mannitol, apparaissant avec une valeur élevée (environ 100 mg/ml) dans les solutions antérieures dans chaque cas, pouvait non seulement être réduite mais aussi complètement éliminée. En fait, on a établi, de façon surprenante, qu'on pouvait préparer une solution injectable aqueuse extraordinairement stable ne nécessitant ni système tampon particulier ni mannitol, en ajoutant graduellement des gluconates de certains métaux bivalents au complexe de zinc-alcaloïde mentionné plus haut en solution aqueuse.

La présente invention concerne donc une composition pharmaceutique à usage parentéral contenant un alcaloïde de type bis-indole, qui comprend un complexe de zinc du sel d'alcaloïde de type bis-indole, un gluconate de métal bivalent et un agent conservateur dissous dans un alcool mono- ou polyhydrique dans une solution aqueuse.

La composition conforme à la présente invention comprend les composants suivants:

- la vincristine, la vinblastine ou la 5'-nor-anhydrovinblastine en tant qu'alcaloïde de type bis-indole;
- le gluconate de calcium, de zinc ou de magnésium en tant que gluconate de métal bivalent;
- le 4-hydroxybenzoate de méthyle et/ou de propyle en tant qu'agent conservateur; et
- l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol ou l'éthylène glycol en tant qu'alcool mono- ou polyhydrique.

Selon un autre aspect de la présente invention, on fournit un procédé pour la préparation d'une composition pharmaceutique contenant un alcaloïde de type bis-indole, qui comprend la dissolution d'un sel d'alcaloïde de type bis-indole dans l'eau, le mélange de celui-ci avec une solution aqueuse de sulfate de zinc, puis le traitement du complexe d'alcaloïde-zinc ainsi obtenu avec une solution aqueuse du gluconate de métal bivalent, cette solution aqueuse résultante étant complétée par addition d'un agent conservateur dissous dans un alcool mono- ou polyhydrique.

Dans le procédé selon la présente invention:

- du sulfate de vincristine, du sulfate de vinblastine ou du tartrate de 5'-nor-anhydrovinblastine sont utilisés en tant que sels d'alcaloïde de type bis-indole;
- du gluconate de calcium, de zinc ou de magnésium sont utilisés en tant que gluconates de métal bivalent;
- de l'éthanol, du n-propanol, de l'isopropanol ou de l'éthylène glycol sont utilisés en tant qu'alcools mono- ou polyhydriques; et
- du 4-hydroxybenzoate de méthyle et/ou de propyle sont utilisés en tant qu'agents conservateurs.

## 5

Selon un mode de réalisation préféré du procédé de l'invention, une solution aqueuse contenant un complexe de VCR-zinc est préparée à partir d'une solution de sulfate de VCR à une concentration de 1,0 à 1,5 mg/ml et d'une solution de sulfate de zinc, puis cette solution est additionnée d'un gluconate de métal bivalent, de préférence un gluconate de zinc, de magnésium ou de calcium, jusqu'à une concentration de 1,5 à 2 mg/ml.

Selon le procédé de la présente invention, des solutions aqueuses stables contenant le complexe de VBL-zinc ou de 5'-nor-VBL-zinc peuvent de même être préparées selon la procédure décrite ci-dessus.

L'avantage le plus important du procédé selon l'invention réside en ce qu'il convient pour préparer une composition à usage parentéral contenant un composant actif de type bis-indole et possédant une stabilité qui se maintient pendant au moins 24 mois, en présence d'une petite quantité d'additifs par une procédure technologique simple.

Les données de stabilité sont déterminées de la façon décrite plus loin.

La stabilité des solutions injectables contenant des composants actifs de type bis-indole préparées dans les exemples ci-après, est contrôlée par une méthode chromatographique liquide haute pression (CLHP) (voir: Pharmacopoea of the USA, Ed. XXI, page 1118). La méthode CLHP est aussi utilisée dans les cas des solutions de sel de vinblastine (voir: Pharmacopoea of the USA, Ed. XXI, page 2453).

Dans le cas de la VCR, la méthode CLHP est accomplie avec une colonne (260 x 4,6 mm) garnie de Nucleosil 5  $\mu$  C<sub>8</sub> avec un débit de 2,0 ml/minute et à une longueur d'onde de 297 nm. L'élution est effectuée avec un mélange de méthanol, d'eau et de diéthylamine (pH 7.5). La durée de rétention est d'environ 7,0 minutes.

La teneur en composant actif est déterminée en fonction d'un étalon externe, c'est-à-dire une solution aqueuse pure ayant une concentration identique à celle de la solution

injectable du sulfate de vincristine de la même origine que celle qui est utilisée dans la solution à déterminer.

La présente invention est illustrée en détail par les exemples non limitatifs suivants.

5

#### Exemple 1

	<u>Composants</u>	<u>g</u>
	Sulfate de VCR	0,1000
	4-Hydroxybenzoate de méthyle	0,1300
10	4-Hydroxybenzoate de propyle	0,0200
	Sulfate de zinc heptahydraté	0,0375
	Gluconate de calcium monohydraté	0,1900
	Ethanol (à 96%)	5,0000
	Eau distillée pour injection, q.s.p.	100 ml

15 Ces composants sont pesés, filtrés pour être exempts de bactéries dans des conditions aseptiques et distribués dans 100 ampoules stériles.

La composition est préparée de la façon suivante.

20 La quantité ci-dessus de sulfate de VCR est dissoute dans 40 ml d'eau et le sulfate de zinc dissous dans 5 ml d'eau est ajouté. Le complexe de zinc ainsi obtenu est mélangé au gluconate de calcium dissous dans 30 ml d'eau et la solution éthanolique des 4-hydroxybenzoates préparée séparément est ajoutée à la solution ci-dessus. La solution obtenue est complétée à 100 ml et  
25 distribuée dans des ampoules dans des conditions aseptiques.

#### Exemple 2

	<u>Composants</u>	<u>g</u>
	Sulfate de VBL	0,1000
30	4-Hydroxybenzoate de méthyle	0,1300
	4-Hydroxybenzoate de propyle	0,0200
	Sulfate de zinc heptahydraté	0,0375
	Gluconate de calcium monohydraté	0,1900
	Ethanol (à 96%)	5,0000
35	Eau distillée pour injection, q.s.p.	100 ml

## 7

Ces composants sont pesés, filtrés pour être exempts de bactéries dans des conditions aseptiques et distribués dans 20 ampoules stériles ayant un volume respectif de 5 ml.

La composition injectable est préparée selon la  
5 procédure de l'exemple 1.

Exemple 3

	<u>Composants</u>	<u>g</u>
	Ditartrate de 5'-non-VBL	0,5000
10	4-Hydroxybenzoate de méthyle	0,1300
	4-Hydroxybenzoate de propyle	0,0200
	Sulfate de zinc heptahydraté	0,0400
	Gluconate de calcium monohydraté	0,2000
	Ethanol	5,0000
15	Eau distillée pour injection, q.s.p.	100 ml

La composition injectable est préparée selon la  
procédure de l'exemple 1.

Exemple 4

20 La procédure de l'exemple 1 est répétée, sauf que 0,1500 g de gluconate de magnésium est utilisé à la place de 0,1900 g de gluconate de calcium.

Exemple 5

25 La procédure de l'exemple 1 est répétée, sauf que 0,2500 g de gluconate de zinc est utilisé à la place de 0,1900 g de gluconate de calcium.

Exemple 6

30 La procédure de l'exemple 1 est répétée, sauf que les 100 ml de solution stérile obtenue sont distribués dans 50 ampoules ayant chacune un volume de 2 ml pour fournir des ampoules contenant 2 mg/2 ml de VCA en tant que composant actif.



Exemple 7

La procédure de l'exemple 1 est répétée, sauf que du sulfate de VBL est utilisé à la place du sulfate de VCR et que de l'isopropanol est employé à la place de l'éthanol.

5

Exemple 8

La procédure de l'exemple 7 est répétée, sauf que de l'éthylène glycol est employé à la place de l'éthanol.

10 Tests de stabilité effectués sur la composition de l'exemple 1

	Mode et durée du stockage	Teneur en composant actif en % de la conc. de départ	Impuretés		
			Totales	N-déformyl- VCR	Autres
15	0	100,00	1,48	0,33	<2
	Réfrigérateur 6 mois	97,80	2,82	1,29	<2
20	Réfrigérateur 9 mois	97,20	2,60	1,51	<2
	Réfrigérateur 12 mois	96,80	3,12	1,81	<2
25	Temp. ambiante 3 mois (protégé de la lumière)	93,10	5,43	3,04	<2
	Temp. ambiante 3 mois (lumière diffuse)	89,40	6,85	3,17	>2
	3 mois à 40°C	80,90	12,40	7,12	>2
30	3 mois à 50°C	53,40	27,4	15,6	>2

## Tests de stabilité effectués sur la composition de l'exemple 2

	Mode et durée du stockage	Teneur en composant actif en % de la concentration de départ	Impuretés Totales
5	0	100,00	1,27
	Réfrigérateur 6 mois	100,80	1,25
10	Réfrigérateur 9 mois	98,5	1,22
	Réfrigérateur 12 mois	97,3	1,50
15	Réfrigérateur 24 mois	97,1	1,62
	Temp. ambiante 3 mois	98,8	1,82
	Temp. ambiante 6 mois	95,8	2,36
20	Temp. ambiante 12 mois	95,5	2,48
	Temp. ambiante 3 mois (lumière diffuse)	99,0	2,05
25	3 mois à 40°C	92,7	5,12
	3 mois à 50°C	69,7	15,60

## REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique à usage parentéral contenant un alcaloïde de type bis-indole, caractérisée en ce qu'elle comprend en solution aqueuse, un complexe de zinc d'un sel  
5 d'alcaloïde de type bis-indole, un gluconate de métal bivalent et un agent conservateur dissous dans un alcool mono- ou polyhydrique.
2. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend de la vincristine ou de la vinblastine en tant qu'alcaloïde de type bis-indole.
- 10 3. Composition suivant la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisée en ce qu'elle comprend du gluconate de calcium, de zinc ou de magnésium en tant que gluconate de métal bivalent.
4. Composition suivant la revendication 1 ou la  
15 revendication 2, caractérisée en ce qu'elle comprend du 4-hydroxybenzoate de méthyle et/ou du 4-hydroxybenzoate de propyle en tant qu'agent conservateur.
5. Composition suivant la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisée en ce qu'elle comprend de l'éthanol,  
20 du n-propanol, de l'isopropanol ou de l'éthylène glycol en tant qu'alcool mono- ou polyhydrique.
6. Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique à usage parentéral contenant un alcaloïde de type bis-indole, caractérisé en ce qu'il comprend la dissolution d'un sel  
25 d'alcaloïde de type bis-indole dans l'eau, le mélange de celui-ci avec la solution aqueuse de sulfate de zinc, puis le traitement du complexe d'alcaloïde-zinc ainsi obtenu avec une solution aqueuse d'un gluconate de métal bivalent, la solution aqueuse résultante étant complétée par addition d'un agent conservateur dissous  
30 dans un alcool mono- ou polyhydrique.
7. Procédé suivant la revendication 6, caractérisé en ce qu'on utilise du sulfate de vincristine ou du sulfate de vinblastine en tant que sel d'alcaloïde de type bis-indole.
8. Procédé suivant la revendication 6 ou la  
35 revendication 7, caractérisé en ce qu'on utilise du gluconate de

calcium, de zinc ou de magnésium en tant que gluconate de métal bivalent.

5 9. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce qu'on utilise de l'éthanol, du n-propanol, de l'isopropanol ou de l'éthylène glycol en tant qu'alcool mono- ou polyhydrique.

10 10. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce qu'on utilise du 4-hydroxybenzoate de méthyle et/ou du 4-hydroxybenzoate de propyle en tant qu'agent conservateur.